

肿瘤间质细胞分泌成纤维生长因子 10 促进结肠癌细胞侵袭

刘淑丹 陈冬梅 马会明 荣诗阔 刘晓明 梁雪云

摘要 目的 确定结肠肿瘤间质细胞的旁分泌因子 FGF10 对肿瘤细胞侵袭的影响。方法 体外分离培养结肠肿瘤间质细胞,ELISA 检测其 FGF10 的表达,并与结肠癌细胞系 HCT116 和 SW480 共培养。同时设添加人重组 FGF10 培养结肠癌细胞系作为试验对照组。Real-time-PCR 检测 HCT116 细胞侵袭相关基因的表达变化。Western blot 法检测共培养后结肠癌细胞系中上皮-间质蛋白表达变化。显微镜下计数透过 Matrigel 包被 Transwell 膜的细胞数量检测细胞的侵袭能力。结果 结肠肿瘤间质细胞高表达 FGF10 生长因子。结肠癌细胞系 HCT116 和 SW480 与 TAFs 共培养系统中,HCT116 和 SW480 细胞中 Twist、Snail、Slug、ZEB1 基因的表达上调,Vimentin 蛋白表达上调,E-cadherin 蛋白表达下降,侵袭能力较正常培养细胞显著增强。同时添加人重组 FGF10 培养结肠癌细胞系表现出同样的表型变化。结论 肿瘤微环境中肿瘤相关间质细胞分泌的 FGF10 能够增强结肠肿瘤细胞的侵袭能力。

关键词 转移性 成纤维生长因子 10 旁分泌因子 肿瘤相关成纤维细胞 结肠癌

中图分类号 R73-37

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.06.013

Tumor Stromal Cells Secreting Fibroblast Growth Factor 10 Promote the Metastatic Capacity of Colon-cancer Cell. Liu Shudan, Chen Dongmei, Ma Huiming, et al. Human Stem Cell Institute of Ningxia, Ningxia Medical University, Ningxia 750004, China

Abstract Objective To investigate the function of colon tumor stromal cells secreting fibroblast growth factor 10 (FGF10) on the metastatic capacity of colon-cancer cell. **Methods** The tumor stromal cells were isolated from the human colon tumor tissue and co-cultured with colon-cancer cell line HCT116 or SW480 in a transwell culture system. Human recombinant FGF10 treated HCT116 or SW480 culture system was set as one of control groups. The tumor associated factors (TAFs) secreted by colon tumor stromal cells were analyzed by ELISA. The gene expression of metastatic capacity associated factors in HCT116 cell were determined by real-time PCR. The expression of E-cadherin and vimentin proteins in colon cancer cell lines were detected by Western blot. The invasion capacity of HCT116 or SW480 cells in the co-culture system was detected by a transwell invasive assay. **Results** Compared with the blank control group, the FGF10 level in the tumor stromal cells culture medium was higher ($P < 0.05$). The gene expression levels of Twist, Snail, Slug, ZEB1 were increased both in HCT116 cells and in SW480 cells, which were cocultured with the tumor stromal cells ($P < 0.05$). Also the protein levels of Vimentin were increased in both groups, but the expression level of E-cadherin was lower in co-culture system ($P < 0.05$). All of the above results were coincide with the presence of human recombination FGF10 treated culture systems. **Conclusion** Our results showed that, as an inducer of an EMT phenotype in colon cancer cell, FGF10 might play a role in promoting colon cancer metastasis.

Key words Metastatic; FGF10; Paracrine factor; Tumor-associated fibroblasts; Colon cancer

肿瘤相关成纤维细胞(tumor-associated fibroblasts, TAFs)是构成肿瘤微环境的主体,通过旁分泌促进了肿瘤的侵袭和转移^[1]。肿瘤细胞的上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是肿瘤

发生远端转移的必然进程。已有研究表明,FGF10 是重要的上皮-间质信号分子,也是指导胚胎发育早期祖细胞迁移的关键因子,在各类分支形态发生中都是不可或缺的^[2]。而在肿瘤侵袭的研究中,FGF10 的独立研究还非常少,大部分研究集中在与其他 FGF 家族成员一起,以及 FGF 受体的研究上^[3,4]。FGF10 是通过何种途径促进了肿瘤细胞发生 EMT? 阐明 FGF10 诱发肿瘤细胞 EMT 的机制对相关疾病的防止有重要的指导意义。本实验选取 HCT116 结肠癌细

基金项目:宁夏回族自治区自然科学基金资助项目(NZ15138)

作者单位:750004 银川,宁夏医科大学总医院干细胞研究所(刘淑丹、陈冬梅、荣诗阔、刘晓明、梁雪云)750004 银川,宁夏医科大学教育部生育力保持重点实验室(马会明)

通讯作者:陈冬梅,副研究员,电子信箱:18309679151@163.com

胞系与原代分离的 TAMs 共培养,并同时设添加 FGF10 组为对照,观察 HCT116 结肠癌细胞系的转移特性和相关信号通路蛋白表达的改变,从而阐明 TAMs 影响 HCT116 结肠癌细胞系发生 EMT 的机制。

材料与方 法

1. 材料:(1)组织标本与细胞来源人结肠肿瘤组织来源于宁夏医科大学总医院结直肠外科手术的肿瘤患者,获得患者知情同意。HCT116 和 SW480 等细胞系由干细胞研究所实验室保存。(2)主要试剂及仪器 1640 培养基、胎牛血清、TRIzol、RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit、SYBR[®] Green real-time PCR master mixes、RIPA、Protease Inhibitor Cocktail、山羊抗人多克隆 anti-FGF10、anti-FGFR2 抗体、HRP 标记兔抗山羊二抗(美国 Thermofisher 公司);人 FGF10 ELISA 试剂盒(美国 Antibodies-online 公司);胶原蛋白酶 A(瑞士 Roche 公司);人重组 FGF10(美国 Peprotech 公司);山羊抗人多克隆抗体 E-cadherin、vimentin(美国 Santa Cruz 公司);倒置荧光显微镜(日本 Olympus 公司);CO₂ 培养箱(美国 Thermofisher 公司);定量 PCR 仪(美国 ABI 公司);电泳仪、蛋白印记成像系统(美国 Bio-rad 公司)。

2. 细胞培养:术后无菌取材肿瘤组织,密封运输至实验室。双抗 PBS 冲洗 3 遍,剔除系膜和脂肪组织,剪碎至 1mm³ 后,至于 1g/L 胶原酶 A 中,37℃ 消化 1h,1000r/min 离心 10min,弃去上清,PBS 清洗 2 遍,1000r/min 离心 5min,重悬于含 10% FBS 的 1640 培养基中,次日换液去除未贴壁细胞,37℃,5% CO₂ 继续培养 6 天,待细胞 80% 汇合传代,每两天换液 1 次。HCT116 培养于含 10% FBS 的 1640 培养基中。

3. ELISA 测定:正常培养的 TAMs,消化离心后,以 1×10⁵/皿的密度重接种于新培养皿中,待细胞贴壁后,更换无血清培养基,继续培养 24h,收集上清用于 ELISA 的检测。ELISA 试剂盒采用双抗体夹心法,分别加标准品和细胞培养上清 0.1ml 于反应孔中,置湿盒中,37℃,2h。弃去液体,用洗涤缓冲液洗板 3 次,每次 3min。之后依次加入新鲜稀释的生物素化的 FGF10 抗体(Reagent A)0.1ml 37℃,1h,弃液、洗涤 3 次,每次 3min,HRP 标记的亲合素(Reagent B)0.1ml,37℃,0.5h,弃液、洗涤 3 次,每次 3min,加入 TMB 底物溶液 0.09ml,37℃,20min。加入终止液 0.05ml,在酶标仪上,于 450nm,读数,根据标准品浓度计算未知样品的浓度。

4. 共培养系统:利用膜孔径为 0.4μm 的 Tran-

swell 小室进行两种细胞共培养,下室接种 TAMs,上室接种 HCT116 或 SW480,共培养于含 10% FBS 的 1640 培养基中,共培养 7 天,期间正常换液和传代。7 天后,收集 HCT116 和 SW480 细胞做免疫印迹,侵袭能力等其他检测。

5. 细胞 RNA 提取及实时定量 PCR 检测:Trizol 法提取细胞总 RNA,紫外分光光度计和琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 浓度、纯度和完整性。通过随机引物体外反转录获取 cDNA,用 SYBR Green 染料法,ABI7900 QPCR 仪中扩增,获得不同样本中目的基因的 Ct 值。通过 2^{-ΔΔCt} 法计算目的基因 mRNA 相对内参 GAPDH 基因的相对表达量,统计分析表达水平的差异,引物序列见参考文献[5]。

6. Western blot 法检测分析:RIPA 裂解液提取样本总蛋白,BCA 法测定蛋白质浓度,SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白,湿法转膜后,5% 脱脂奶粉封闭 1h,次序与一抗(4℃ 过夜)、二抗孵育(室温 30min),利用 ECL 法检测目的蛋白条带,灰度扫描后分析蛋白质表达水平的差异。使用 Image pro plus 6.0 专业图像分析软件进行图像分析,用 β-actin 标准化蛋白表达量。

7. TNM 分期标准:根据美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer,AJCC)/国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control,UICC)结直肠癌 TNM 分期系统(2010 年第 7 版)进行大肠癌 TNM 分期。

8. 免疫组织化学:4% 多聚甲醛固定的组织标本进行石蜡包埋切片。免疫组织化学二步法,切片常规脱蜡,梯度乙醇水化,利用 3% H₂O₂ 阻断内源性生物素酶的活性,室温下孵育 10min,pH 值为 6.0 枸橼酸缓冲液抗原修复(高压修复 3min)。兔抗人 FGF10、FGFR2 多克隆抗体孵育(1:100 稀释),4℃ 过夜,PBS 冲洗 5min×3 次。HRP 标记山羊抗兔二抗室温孵育 30min,PBS 冲洗 5min×3 次,DAB 显色 3min,苏木素复染 30s,中性树脂胶封片,以 PBS 代替一抗作为阴性对照。所有切片均按同一条件进行随机拍摄,每张切片每个倍数拍摄 10 个视野。使用 Image pro plus 6.0 专业图像分析软件进行图像分析。

9. 肿瘤细胞侵袭实验:用 40μl 1:5 稀释的 matrigel 基质包被 8μm 孔隙的 12mm Transwell 小室膜表面,至于 37℃ 孵育 4~5h 形成凝胶。接种前加培养基使胶重构,5×10⁴ 细胞悬液 200μl(含 0.5% 血清培养基)接种于上室中,10% FBS 的培养基 500μl 补充至下室中。培养 24h 后,4% 多聚甲醛固定,将小室

内细胞用棉签擦去, PBS 冲洗至室内无细胞, 0.1% 结晶紫染色 5min。光学显微镜下确定细胞迁移到基膜背面的细胞数量, 每个小室拍摄 5 个视野, 计算平均值和标准差。

10. 统计学方法: 所有实验进行了 3 次重复。数据由 SPSS 17.0 统计学软件进行统计分析, 以均数标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 应用统计学软件对实验结果进行单因素方差分析, LSD 多重比较。对计数或百分数结果进行 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 共培养后结肠肿瘤细胞系 HCT116 的形态和特征变化: FGF10 抗原表达定位在细胞质、细胞膜上, 细胞质内有棕黄色颗粒者视为阳性染色细胞。由图 1 可见 III ~ IV 期肿瘤组织中 FGF10 阳性率

(80.20%) 高于 I ~ II 期癌组织 (62.35%) 和癌旁组织 (12.50%), 3 组间的阳性表达率差异有统计学意义 ($\chi^2 = 9.86, P < 0.01$)。组织中 FGFR2 的表达位于上皮样细胞胞质内。结直肠癌旁、I ~ II 期癌组织和 III ~ IV 期肿瘤组织中 FGF10 的阳性表达率分别为 43.67%、58.33%、47.42%, 3 组间的阳性表达率差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.46, P > 0.05$, 图 1A)。Western blot 法进一步检测了各结肠癌肿瘤细胞系中 FGF10 的表达情况, 结果显示, 癌组织中 FGF10 的表达较癌旁表达高 61%, 结肠癌细胞系中恶性程度较高的 HCT116 细胞 FGF10 表达最高, 之后依次为 LS174T 和 SW620, 而恶性程度较低的 SW480、CACO-2 细胞和正常肠细胞系 NCM460 中没有检测到 FGF10 的表达 (图 1B)。

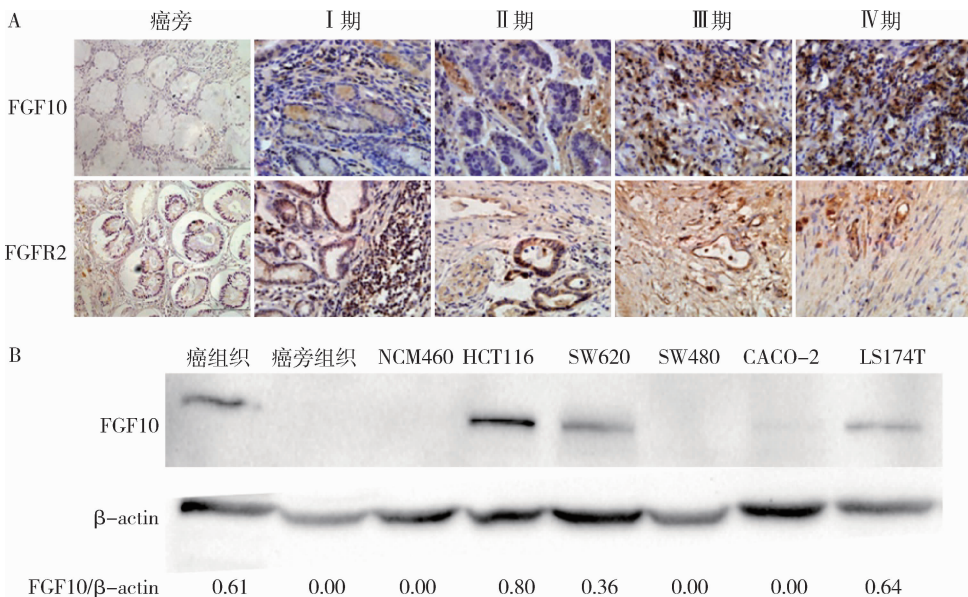


图 1 结肠癌临床标本和细胞系中 FGF10 的表达

A. 不同分期结肠癌组织标本中 FGF10 的表达情况 (HE 染色, $\times 200$); B: Western blot 法检测结肠癌细胞系中 FGF10 的表达

2. 肿瘤间质细胞的培养和 FGF10 的分泌: TAFs 原代贴壁细胞, 呈典型间质细胞样, 梭形漩涡样生长 (图 2A)。ELISA 检测 10^5 细胞 24h 培养后培养上清

中 FGF10 含量达 $182.00 \pm 16.25 \text{ pg/ml}$, 较空白培养基含量提高 121.95%, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 图 2B)。

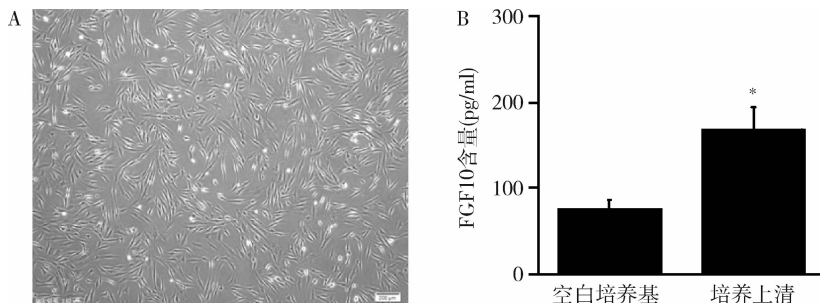


图 2 肿瘤间质成纤维细胞的培养与 FGF10 的表达检测

A. P3 代 TAFs 形态 ($\times 100$); B: ELISA 检测 TAFs 培养上清中 FGF10 的表达, * $P < 0.01$

3. 共培养/FGF10 处理后 HCT116 细胞 EMT 相关基因表达变化: 荧光定量 PCR 检测 EMT 相关基因 Twist、Snail、Slug、ZEB1 和 E-cadherin 的表达, 结果显示与 TAFs 共培养后的 HCT116 细胞中, 与正常培养对照组相比, EMT 相关转录因子 Twist、Snail、Slug、ZEB1 的表达上调, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 上皮细胞标志基因 E-cadherin 表达较正常培养条件下差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。同时, 通过添加 hrFGF10 (20ng/ml) 进行培养的 HCT116 细胞中, 与正常培养对照组相比, EMT 相关转录因子 Twist、Snail、Slug、ZEB1 的表达上调, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 而上皮标志基因 E-cadherin 表达下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结果表明, 与 TAFs 共培养和添加 hrFGF10 可以明显促进侵袭相关基因的 mRNA 表达 (图 3)。

4. 共培养/FGF10 处理后结肠癌细胞 EMT 相关蛋白表达变化: 与 TAFs 共培养 7 天后 HCT116 和 SW480 细胞发生间质样改变, 上皮表型标志物 E-cadherin 蛋白表达明显下降, 间质表型标志 vimentin

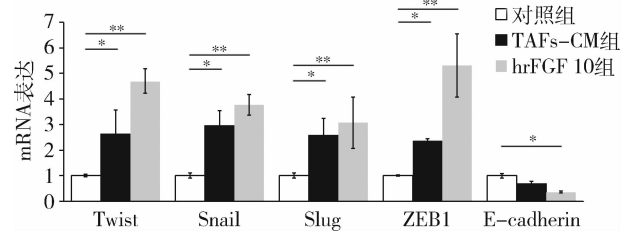


图 3 共培养后 HCT116 细胞 EMT 相关 mRNA 表达变化
* $P < 0.05$, ** $P = 0.000$

蛋白表达上调, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。接下来课题组进一步检测了添加人重组 FGF10 后, 各蛋白的表达情况。FGF10 可以降低两种细胞中 E-cadherin 蛋白表达, 而 vimentin 的表达较对照组有明显的上调 ($P < 0.01$)。TAFs - CM (共培养) 组, hrFGF10 (10ng/ml) 组和 hrFGF10 (20ng/ml) 组各组间的蛋白表达差异无统计学意义。与 TAFs 共培养和添加 hrFGF10 可以明显促进间质相关蛋白表达 (图 4)。

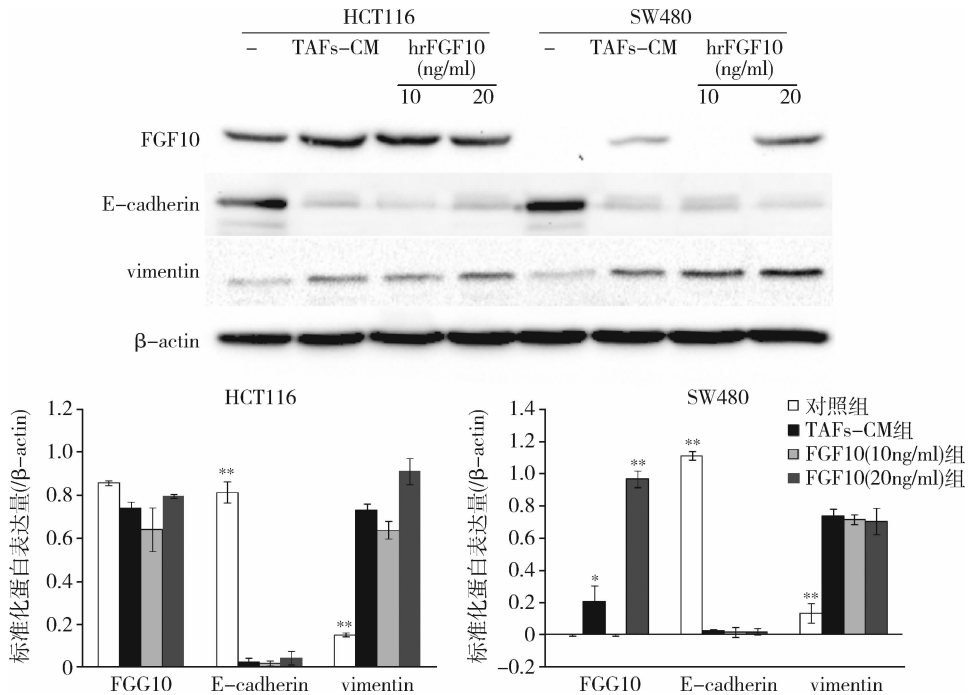


图 4 HCT116 和 SW480 细胞 EMT 相关蛋白表达变化

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

5. 共培养后结肠癌细胞侵袭性的改变: 利用 Transwell 侵袭实验检测处理前后 HCT116 和 SW480 细胞侵袭能力, 结果显示两种细胞与 TAFs 共培养后, 穿透 Transwell 基膜的细胞数量显著增多, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。同样, 添加两种浓度的 hrF-

GF10 处理后, 穿透 Transwell 基膜的细胞数量也显著增加 ($P < 0.01$)。与 TAFs 共培养和添加 hrFGF10 可以明显促进结肠肿瘤细胞系 HCT116 和 SW480 的侵袭能力 (图 5)。

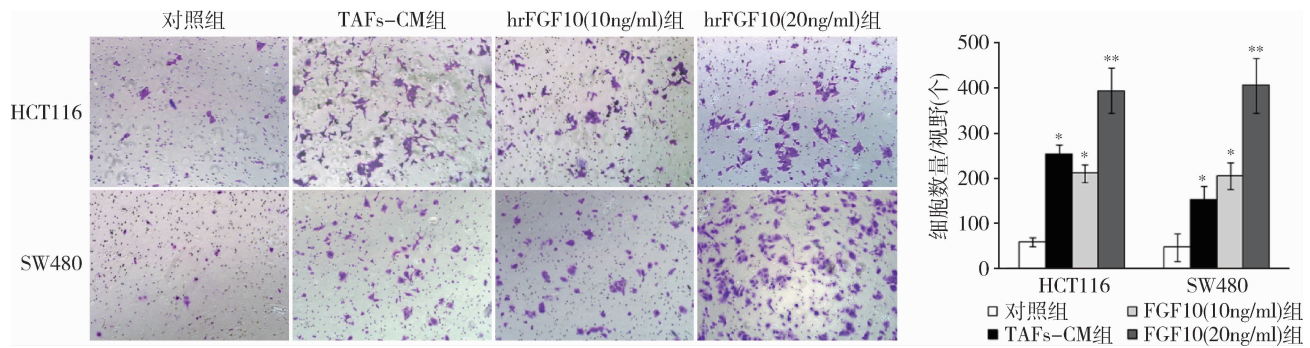


图5 共培养后 HCT116 细胞侵袭能力变化(结晶紫染色, $\times 100$)

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

讨 论

肿瘤微环境在肿瘤侵袭、血管形成和转移过程中起着重要作用。TAFs 作为构成肿瘤微环境的重要主体,表达的多种细胞因子、黏附分子和一些蛋白酶等,参与多种因子相互作用促进肿瘤侵袭、血管形成和转移的过程,不同程度增加了肿瘤细胞的恶性表型。因此,针对 TAFs 的靶向治疗有望成为肿瘤治疗新的发展方向。这些间质细胞旁分泌的因子改变是这些功能得以体现的基础,因此非常有必要进一步探索新的标志物,自分泌和旁分泌因子以及信号通路,为向于的肿瘤治疗提供新的方向。

笔者之前的研究发现,肿瘤环境中的间质细胞与肿瘤细胞相互影响,发生旁分泌因子表达的改变,促进肿瘤的迁移和侵袭。其中 FGF10、VEGFC、TNF- α 、IL-10 和 MMPs 等蛋白表达都有显著的上调,并表现出 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活^[5]。在分析了这些基因的启动子结合位点后,其中 FGF10 能够与 WNT 通路的转录复合物 LEF/TCF 直接结合,说明 FGF10 是在 TAFs 中受到来自肿瘤细胞旁分泌 Wnt 蛋白的影响而表达上调。FGF10 敲除鼠表现出四肢和肺的极度发育不良,和其他多器官的缺陷,出生后无法存活^[6]。FGFR2b 敲除的小鼠在多种表型上与其相似,说明 FGF10 在发育中是 FGFR2b 重要的不可替代的配体^[7]。有研究发现,FGFR2b 受体的两个配体 FGF7 和 FGF10 有极大不同生物学影响,FGF7 蛋白与细胞分裂有关,而另一个蛋白 FGF10 控制了细胞运动,说明 FGF10 具有其独特的作用。

本研究中笔者分析了不同分期的结肠癌临床样本中 FGF10 的表达,发现随着临床分期的进展,结肠癌组织间质中 FGF10 表达上调。蛋白印迹分析结肠癌组织、癌旁组织以及各个结肠癌细胞系中 FGF10 表达发现 FGF10 的表达明显与细胞的恶性程度相

关。在体外培养的 TAFs 的条件培养基中检测到 FGF10 的表达上调,并在与 HCT116 和 SW480 细胞共培养后,影响了 HCT116 和 SW480 细胞的 EMT 表型。通常条件下,EMT 调控组织发育,病理条件下 EMT 在肿瘤侵袭过程中起着重要的作用。实体瘤中侵袭是肿瘤转移和复发的前提,研究显示,肿瘤微环境中的 TGF- β 1、VEGF、Wnt1、和 IL6 等信号分子通过激活 TGF- β 、RTKs、Wnt、NF- κ B 等信号通路,下调 E-cadherin,激活一组下游的转录调控因子: Snail、Slug、Twist 和 ZEB1 等,诱导 EMT 和浸润性癌症的形成。

本研究蛋白检测显示,HCT116 和 SW480 细胞丢失上皮表型标志 E-cadherin,表现出间质表型蛋白 vimentin 表达上调。这与笔者 qRT-PCR 检测到的 EMT 相关基因表达变化一致。获得间质表型的肿瘤干细胞亚群是肿瘤转移和复发的关键因素。本研究检测发现添加人重组 FGF10 蛋白培养的 HCT116 细胞与 TAFs 共培养后获得了同样的基因表型(间质表型基因的表达上调),以及 E-cadherin 上皮表型蛋白表达下降,并开始表达 vimentin 蛋白,并且肿瘤细胞的侵袭能力明显增强,说明 TAFs 促进了 HCT116 细胞的 EMT 发生可能是 FGF10 参与的结果。在肿瘤侵袭的研究中,FGF10 的独立研究还非常少,大部分研究集中在与其他 FGF 家族成员一起,以及 FGF 受体的研究上^[3]。有研究发现 FGF10 信号可能增加乳腺癌、食道癌和胃癌的危险程度^[8-10]。也有研究显示来源于骨髓间充质干细胞的 FGF10 通过抑制 Oct4、Sox2 的转录能够减小肿瘤的体积^[11]。以上研究结果也并不完全一致,并且 FGF10 诱发肿瘤细胞 EMT 的机制仍没有更深入的研究。因此进一步研究 FGF10 在特定肿瘤微环境下的作用机制对相关疾病的防治有重要的指导意义。

参考文献

- 1 Park YM, Yoo SH, Kim SH. Adipose - derived stem cells induced EMT - like changes in H358 lung cancer cells[J]. *Anticancer Res*, 2013, 33(10): 4421 - 4430
- 2 Gros J, Tabin CJ. Vertebrate limb Bud formation is initiated by localized epithelial - to - mesenchymal transition [J]. *Science*, 2014, 343(6176): 1253 - 1256
- 3 Guan X. Cancer metastases: challenges and opportunities[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2015, 5(5): 402 - 418
- 4 Qian X, Anzovino A, Kim S, et al. N - cadherin/FGFR promotes metastasis through epithelial - to - mesenchymal transition and stem/progenitor cell - like properties[J]. *Oncogene*, 2014, 33(26): 3411 - 3421
- 5 Chen D, Liu S, Ma H, et al. Paracrine factors from adipose - mesenchymal stem cells enhance metastatic capacity through Wnt signaling pathway in a colon cancer cell co - culture model[J]. *Cancer Cell Int*, 2015, 15: 42
- 6 Sekine K, Ohuchi H, Fujiwara M, et al. Fgf10 is essential for limb and lung formation[J]. *Nat Genet*, 1999, 21(1): 138 - 141
- 7 Itoh N, Ohta H. Fgf10: a paracrine - signaling molecule in development, disease, and regenerative medicine [J]. *Curr Mole Med*, 2014, 14(4): 504 - 509
- 8 Saito S, Morishima K, Ui T, et al. The role of HGF/MET and FGF/FGFR in fibroblast - derived growth stimulation and lapatinib - resistance of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *BMC Cancer*, 2015, 15: 82
- 9 Castro MA, de Santiago I, Campbell TM, et al. Regulators of genetic risk of breast cancer identified by integrative network analysis[J]. *Nat Genet*, 2016, 48(1): 12 - 21
- 10 Sun Q, Lin P, Zhang J, et al. Expression of fibroblast growth factor 10 is correlated with poor prognosis in gastric adenocarcinoma[J]. *Tohoku J Exp Med*, 2015, 236(4): 311 - 318
- 11 Kanehira M, Kikuchi T, Santoso A, et al. Human marrow stromal cells downsize the stem cell fraction of lung cancers by fibroblast growth factor 10[J]. *Mole Cell Biol*, 2014, 34(15): 2848 - 2856

(收稿日期:2017-08-23)

(修回日期:2017-10-09)

神经干细胞脑出血大鼠脑内移植对 T 淋巴细胞亚群的影响

高 鲁 叶 雷 李仲颖 单 明 程宏伟

摘要 目的 探讨神经干细胞(neural stem cells, NSCs)移植入脑出血大鼠模型脑内后,观察脑组织内和血液中 T 淋巴细胞亚群的变化。**方法** 选择成年雄性 SD 大鼠作为模型动物,采用 IV 型胶原酶诱导法建立脑出血模型,脑出血后 3h 移植神经干细胞,3 天进行各项指标检测。应用流式细胞仪分析脑组织与血液中的 T 淋巴细胞亚群变化。应用酶联免疫吸附试验检测脑组织与血液中细胞因子的变化。通过组织免疫荧光了解 T 淋巴细胞与 NSCs 在脑出血大鼠脑内的分布情况。**结果** 在血液中,与对照组相比较,NSCs 移植组能够增加调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)与 CD4⁺ T 细胞表达,减少 $\gamma\delta$ T 与 CD8⁺ T 细胞表达。在脑组织中,NSCs 移植组能够增加 Treg 细胞表达,减少 $\gamma\delta$ T、CD4⁺ T 和 CD8⁺ T 细胞表达。与对照组比较,NSCs 移植组增加血液与脑组织中 IL - 4(interleukin - 4)、IL - 10(interleukin - 10)和 TGF - β (transforming growth factor - β)的表达,并且减少 IL - 6(interleukin - 6)与 IFN - γ (interferon - γ)的表达。**结论** 脑出血早期 NSCs 脑内移植促进保护性的 T 细胞亚群和抑制破坏性的 T 细胞亚群表达,提示移植的 NSCs 可能通过发挥免疫调节作用起到神经保护作用。

关键词 脑出血 神经干细胞移植 T 淋巴细胞亚群 免疫调节作用

中图分类号 R3 文献标识码 A DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.06.014

Effects of Neural Stem Cells Intracerebral Transplantation on T Lymphocyte Subpopulations in Intracerebral Hemorrhage Rats. Gao Lu, Ye Lei, Li Zhongying, et al. Department of Neurosurgery, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Anhui 230032, China

Abstract Objective To discuss the role of neural stem cells(NSCs) intracerebral transplantation in the modulation of T lymphocyte subpopulations in the brain and blood after intracerebral hemorrhage in rats. **Methods** NSCs were injected intracerebrally at 3 hours after collagenase induced ICH in sprague dawley rat models. All experimental results were tested at 3 days after ICH. Flow cytometry was

基金项目:安徽省自然科学基金资助项目(1708085MH211)
 作者单位:230032 合肥,安徽医科大学第一附属医院神经外科
 通讯作者:程宏伟,电子邮箱:1305345296@qq.com